Aus dem Hygiene-Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. R.-E. Bader

Über die Häufigkeit des Vorkommens von Corynebakterien in der Rachenflora gesunder Erwachsener

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Wolfgang Saria
aus Stuttgart

1968

9681

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547604_0004

Aus dem Hygiene-Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. R.-E. Bader

Über die Häufigkeit des Vorkommens von Corynebakterien in der Rachenflora gesunder Erwachsener

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Wolfgang Saria
aus Stuttgart

1968

Dekan: Professor Dr. W. Graumann
1. Berichterstatter: Professor Dr. W. Wundt
2. Berichterstatter: Professor Dr. R.-E. Bader

UNIV. LEIDEN BIBL.

M E I N E N E L T E R N

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I	Einleitung	1
	A Übersicht über das Genus Corynebacterium	1
	B Die Diphtherie	4
	C Fragestellung der vorliegenden Arbeit	5
II	Materialien und Methodik	6
	A Materialien	6
	B Methodik	7
III	Ergebnisse	12
IV	Statistische Auswertung der Ergebnisse	14
V	Diskussion	20
	A Diskussion der Methodik	20
	B Diskussion der Ergebnisse	22
VI	Zusammenfassung	27
VII	Literatur	28

I Einleitung

A) Übersicht über das Genus Corynebacterium

Die Corynebakterien, die in der Pflanzen- und Tierwelt zu finden sind, zählen zu den gram-positiven Stäbchen, wobei anaerobe und aerobe sowie pathogene und apathogene Keime unterschieden werden.

Die beim Menschen vorkommenden Angehörigen der Gattung Corynebacterium lassen sich in 2 Gruppen unterteilen. Die erste findet sich in der Regel auf der Haut, in eitrigen Geschwüren oder in Organen (C.pyogenes, C.enzymicum), die zweite Gruppe besiedelt vor allem die Schleimhäute von Nase, Rachen und Mund. Zu diesen gehört als die wichtigste und bekannteste Spezies Corynebacterium diphtheriae. Auf diesen Schleimhäuten finden sich außerdem C.pseudodiphtheriae und C.xerosis, wobei C.xerosis häufiger im Bindehautsack des Auges gefunden wird. Das Corynebacterium xerosis ist allerdings nicht der Erreger der Augenkrankheit Xerosis, was schon Ende des 19. Jahrhunderts bekannt war. Es konnte nämlich gezeigt werden, daß dieses Bacterium zu den regelmäßigen Bewohnern des Bindehautsacks gehört. Die seltene Krankheit der Xerosis konnte daher unmöglich auf einen so weit verbreiteten Mikroorganismus zurückgeführt werden. Der erste, der die Pathogenität des C.xerosis bestritt, war Schleich im Jahre 1884. Da die Pseudodiphtheriebakterien im Jahre 1887 durch von Hofmann Wellenhof beschrieben wurden, sind sie auch unter

dem Namen Corynebacterium pseudodiphtheriticum sive Hofmanni bekannt. Sie sind hamrlose Bewohner des Nasen-Rachenraumes.

Bei den übrigen Corynebakterien handelt es sich in der Mehrzahl um Bakterien, die bei Tieren zu finden sind und im menschlichen Rachen mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit nicht vorkommen (z.B.: Corynebacterium equi, C.bovis, C.kutscheri usw.).

In Tabelle 1 sind die Species der Gattung Corynebacterium zusammengestellt. Gleichzeitig sind ihre Fundorte und ihre Pathogenität angegeben.

Tabelle 1 nach Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 7. Ausgabe (1957)

Name	Vorkommen	Menschen- oder Tierpathogenität
Corynebacterium = C.		
C. diphtheriae typ mitis typ intermedius typ gravis	sämtliche im Nasen-Rachenraum des Menschen	Mensch virulente u. avirulente Stämme
C. enzymicum	soweit bekannt beim Menschen im Blut, in Lunge und Gelenken	Kaninchen und Maus
C. hoagii	aus dem menschlichen Rachen isoliert; ebenso als Luftverunreinigung in anderen Kulturen	?
C. striatum	menschliche Nasenschleimhaut und Rachen	Maus
C.pseudotuberculosis	bei der käsigen Lymphadenitis der Schafe und in eiternden Verletzungen von Pferden, Rindern und anderen Warmblütlern	?

C. xerosis	aus gesunden und erkrankten Bindehautsäcken isoliert	nicht pathogen
C. pyogenes	mitunter im Eiter von Rindern und Abszessen beim Menschen	?
C. murisepticum	bei Blutvergiftungen von Mäusen	Maus
C. renale	bei der Nierenbeckenentzündung von Rindern	Maus
C. kutscheri	aus der käsigen Masse einer Mäuselunge	?
C. phocae	isoliert aus der Wundrose	?
C. pseudodiphtheriticum	Nasen- Rachenraum des Menschen	nicht pathogen
C. equi	bei an Lungenentzündung erkrankten Fohlen gefunden	für Laboratoriumstiere nicht pathogen
C. bovis	in frischer Milch	nicht pathogen für Meerschweine
C. taurometabolum	aus den Eierstöcken einer Bettwanze isoliert	?
C. vesiculare	isoliert aus dem medizinischen Blutegel (Hirudo medicinalis)	?

Bei einem Teil der angeführten Spezies muß die Frage der Pathogenität offen bleiben, da ihre Isolierung aus verschiedenartigen Krankheitsprozessen bei Menschen oder Tieren nicht unbedingt bedeutet, daß es sich um die Erreger handelt. Vielmehr können sie auch als harmlose Begleitkeime vorhanden gewesen sein.

B) Die Diphtherie

Die Krankheitsbezeichnung Diphtherie ist durch die grundlegende Arbeit von Bretonneau 1826 in der ärztlichen Welt bekannt geworden. Der Erreger wurde erst im Jahre 1884 von Löffler entdeckt, wodurch die Einheitlichkeit der diphtherischen Erkrankungen auf bakteriologischem Wege bewiesen wurde. Zuvor wurden die verschiedenen Erscheinungsformen der Diphtherie nicht unbedingt als eine Krankheit angesehen. Aus diesem Grunde erscheint sie in der älteren Literatur unter den mannigfachsten Bezeichnungen, wie Croup, Angina maligna, Angina membranacea, brandige, häutige oder Mandelbräune.

Nach der Jahrhundertwende haben Therapie und Prophylaxe große Fortschritte gemacht. Dennoch ist es nicht gelungen, dieser Krankheit in gleichem Maße, wie dies bei den "klassischen" Seuchen Pocken, Cholera u.a. der Fall ist, Herr zu werden. Dafür gibt es verschiedene Ursachen. Die Verhinderung ihrer Übertragung ist an die Früherkennung und an eine frühzeitige und exakt durchgeführte Isolierung der Kranken gebunden; beides stößt in der Praxis auf Schwierigkeiten. Darüberhinaus treffen allgemeinhygienische Maßnahmen den Erreger nur mittelbar, was auf lange Sicht zwar unterstützend, aber nicht entscheidend ist. Vor allem aber ist die vollständige Ausrottung der Diphtherie durch das Vorhandensein von Keimträgern erschwert, deren Erfassung weitgehend vom Zufall abhängig ist. Dennoch ist die Erkrankungshäufigkeit in den letzten 20 Jahren ständig zurückgegangen.

Die Ursache für die Abnahme der Diphtherie ist nicht völlig geklärt, und es bleibt offen, ob wir uns etwa nur im Wellental einer säkulären Schwankung befinden oder ob wir vor der endgültigen Ausrottung der Krankheit stehen. Nichts aber wäre verhängnisvoller, als aus dieser Entwicklung den Schluß zu

ziehen, die Maßnahmen zur Bekämpfung der Diphtherie könnten abgebaut werden. Dies gilt insbesondere für die aktive Immunisierung, die ohne Zweifel dazu beigetragen hat, daß diese Krankheit ihre Schrecken verlor.

C) Fragestellung der vorliegenden Arbeit

Der starke Rückgang der Diphtherie als Erkrankung ließ die Frage auftauchen, ob auch die Zahl der gesunden Keimträger ebenso zurückgegangen war. In der Literatur finden sich Angaben über die Häufigkeit in der Bevölkerung, die möglicherweise einer Korrektur bedürfen. Wird dies bei einer Reihenuntersuchung geprüft, läßt sich auch die Frage klären, wie oft sich durch bakteriologische Rachenabstrichuntersuchungen bei Menschen, die das 21. Lebensjahr überschritten haben, Corynebakterien feststellen lassen.

Außerdem konnte darüberhinaus bei den genannten Personen die Häufigkeit des Vorkommens

vergrünender Streptokokken,
haemolysierender Streptokokken,
haemolysierender Staphylokokken
und Sarcinen

in den Abstrichen mituntersucht werden.

Nach Vorliegen der Ergebnisse sollte mit Hilfe der Wahrscheinlichkeitsrechnung geprüft werden, ob aus dem untersuchten Personenkreis Schlüsse für die gesamte Bevölkerung Baden-Württembergs gezogen werden können.

II Materialien und Methodik

Vom Frühjahr bis Herbst 1965 wurden bei 650 symptomlosen Erwachsenen Rachenabstriche entnommen und bakteriologisch ausgewertet.

A) Materialien

Die Abstriche wurden mit Abstrichtupfern entnommen.

Folgende Nährböden wurden verwendet:

Zur Isolierung der Corynebakterien aus der Rachenflora

a) Clauberg II Telluragar-Platte
(Tellurit-Blutwasser-Glyzerolat-Agar nach Clauberg) (1933)
(K. Schliff) (1938)

b) 10 %ige Hammelblut-Agar-Platten

Zur Fortzüchtung der isolierten Corynebakterienstämme wurden

10 %ige Hammelblutschrägagarröhrchen mit Gummistopfen verwendet

Die Typenbestimmung der gefundenen Corynebakterien erfolgte aufgrund des Verhaltens der Stämme gegen verschiedene Kohlenhydrate und Harnstoffe. Dabei wurde Proteoseboullion mit einem je 1 %igen Gehalt an

Dextrose
Maltose
Saccharose
Lactose
Dextrin
Stärke
Salicin

und dem Indikator Wasserblau (gelöst) verwendet. Ausgangs-pH von 7,4.

Die Harnstoffspaltung wurde geprüft in

Proteoseboullion mit 1 %igem Gehalt an Harnstoff (nach Püschel) (1936). Indikator Phenolphthalein.

Der Aesculinabbau in Proteoseboullion mit 0,1 %igem Gehalt an Aesculin. Nachweis der Aesculinspaltung mit 7 %iger $FeCl_3$ - Lösung.

B) Methodik

1. Gewinnung der Reinkulturen von Corynebakterien

Die Rachenabstriche im Bereich der Tonsillen von 650 erwachsenen Patienten der chirurgischen Universitäts-klinik, der Medizinischen und der Zahn-Klinik Tübingen, die keine Symptome von Seiten des Nasen-Rachenraums zeigten, wurden spätestens zwei Stunden nach Entnahme auf einer Clauberg-II- und einer Blutplatte ausgestrichen. Nach 48 stündiger Bebrütung bei 37° C fertigte ich von den Kolonien auf Clauberg II und Blutagar mikroskopische Präparate an, von denen eines nach der Neisser'schen

Doppelfärbung, das andere nach Gram gefärbt wurde. Bestand der Verdacht auf Corynebakterien, so wurde die betreffende Kolonie zur Reinzüchtung auf Blutagar überimpft.

Nach wiederholten mikroskopischen Reinheitskontrollen und einer Gramfärbung zum Ausschluß gramnegativer Stäbchen wurde die Klassifizierung mittels einer noch zu besprechenden "Bunten Reihe" vorgenommen.

Von Platten, auf denen ein zu dichtes Bakterienwachstum festzustellen war, wurde ein Querstrich erneut auf Blutagarplatte ausgesät, um Einzelkolonien zu gewinnen.

Die Reinkulturen wurden bis zur weiteren Verarbeitung auf Blutschrägagar überimpft und die Röhrchen nach 48 stündiger Bebrütung bei 37° C. mit Gummistopfen verschlossen. Die Blut- und Clauberg-II-Platten untersuchte ich außerdem noch auf Wachstum anderer im Rachen vorkommender Bakterien (z.B. Sarcinen, vergrünende und haemolysierende Streptokokken und haemolysierende Staphylokokken).

2. Unterscheidung der Corynebakterien

Eine Kolonie der reingezüchteten grampositiven Stäbchen wird in 5 ccm Proteoseboullion eingeimpft und bei 37° C 24 Stunden bebrütet. Hiervon werden nun je 5 Tropfen zu den 9 nachfolgenden Nährmedien gegeben.

Proteoseboullion mit a) 1 % Dextrose
b) 1 % Maltose
c) 1 % Saccharose
d) 1 % Lactose
e) 1 % Dextrin
f) 1 % Stärke

g) 1 % Salicin
h) 1 % Harnstoff
i) 0,1 % Aesculin

1 Tropfen wurde zur Durchführung der Reinheitskontrolle auf Blutplatte ausgestrichen, die ich nach 48 stündiger Bebrütung bei 37° C makroskopisch und mikroskopisch kontrollierte.

Die Bunte Reihe wurde nach 24h, 48h, nach 4, 8, 14 und 30 Tagen auf Fermentation geprüft, die in den Nährmedien a- g durch einen Farbumschlag des zugesetzten Indikators Wasserblau von gelb nach blau angezeigt wurde.

Die Harnstoffspaltung wurde nach 24 und 48 Stunden unter Zugabe von 2 Tropfen Phenolphthalein geprüft, wobei nach 24 Stunden die Ausgangslösung in zwei Teile geteilt wurde, von denen der eine Teil weitere 24 Stunden in den Brutschrank gelangte, der andere zum 1. Ureasenachweis diente; dies war nötig, um bei der Zugabe von Phenolphthalein eine Schädigung der Keime zu verhindern. Im Falle der Ureasebildung trat eine purpurrote Färbung auf.

Sofern Aesculin gespalten wurde, ließ sich dies nach 36 Stunden durch Zugabe von 7 %iger $FeCl_3$- Lösung nachweisen. Dabei entstand ein deutlich sichtbarer schwarzgrüner Niederschlag. Konnten jedoch die Keime das Aesculin nicht angreifen, so erhielt man bei Zugabe der 7 %igen $FeCl_3$-Lösung nur einen gelbbraunen Niederschlag.

Am Schluß ist noch zu erwähnen, daß sämtliche Keime, die fähig waren, Aesculin zu spalten, mit dem SIM-Medium auf ihre Beweglichkeit untersucht wurden. Dies wurde für erforderlich gehalten, um etwa vorhandene Erreger der Listeriose, Listeria monocytogenes, die im Gegensatz zu den Corynebakterien begeißelt sind (H.P. Seeliger 1958), zu erkennen.

Tierversuche wurden bei Stämmen durchgeführt, bei denen der Verdacht bestand, daß es sich um Diphtheriebakterien handelt. Dem Tier wurde je eine intracutane Quaddel mit

a) Kochsalzlösung
b) Kochsalzabschwemmung des verdächtigen Stammes
c) Kochsalzabschwemmung eines toxischen Laboratoriumsstammes von C.diphtheriae

gesetzt.

Zudem wurde noch der Diphtherietoxinnachweis nach Elek (1948) durchgeführt.

Bei vergrünenden und haemolysierenden Streptokokken sowie den haemolysierenden Staphylokokken und Sarcinen wurde auf eine Typenbestimmung verzichtet.

Vergrünende und haemolysierende Streptokokken wurden durch Feststellung der α- bzw. β- Haemolyse auf der Blutagarplatte, wie sie Seelemann angibt, und einer mikroskopischen Untersuchung nachgewiesen.

Zum Nachweis der haemolysierenden Staphylokokken wurden die β- Haemolyse auf Hammelblutagarplatte, die Pigmentbildung, die Plasmakoagulase (Hallmann 1961) und die mikroskopische Untersuchung herangezogen.

Die Sarcinen konnten aufgrund ihrer typischen Lagerung in "Paketform" oder "Warenballenform", wie sie Hallmann 1961 beschreibt, diagnostiziert werden.

Die "Bunte Reihe" wurde nach Tabelle 2 ausgewertet, die den Angaben von Bergey's Manual (1957) über die biochemischen Leistungen der Corynebakterien entspricht.

In zweifelhaften Fällen zog ich die Arbeit von W. Schiff (1962) zu Rate, in welcher ausführlich über die fermentativen Eigenschaften der Corynebakterien berichtet wird.

Tabelle 2

Corynebacterium = C.	Dextrose	Maltose	Saccharose	Lactose	Salicin	Aesculin	Harnstoff	Stärke	Dextrin
C.diphtheriae									
typ mitis	+	+	-	-	-	-	-	-	±
typ intermedius	+	+	-	-	-	-	-	-	±
typ gravis	+	+	-	-	-	-	-	+	+
C.pseudodiphteriticum	-	-	-	-	-	-	+	-	-
C.xerosis	+	+	+	-	-	-	-	-	-
C.hoagii	+	-	+	?	-	-	-	-	-
C.pyogenes	+	+	+	+	-	-	-	-	±
C.ulcerans	+	+	-	-	-	-	+	+	+
C.equi	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C.renale	+	-	-	-	-	-	+	-	-
C.kutscheri	+	+	+	-	-	+	-	-	-
C.pseudotuberculosis	+	+	±	+	-	-	+	-	±
C.acnes	+	+	+	-	?	?	?	?	?
C.phocae	+	+	?	(+)	+	?	-	?	+ ?
C.haemolyticum	+	+	+	+	?	-	-	-	?

III Ergebnisse

In Tabelle 3 sind die Ergebnisse der Rachenabstriche dargestellt.

Tabelle 3

Anzahl d. Stämme	Art des Stammes	in % der 650 Untersuchten
1	C.diphtheriae typ mitis, atoxisch	0,15
16	C.pseudodiphtheriticum	2,46
10	C.xerosis	1,54
642	vergrünende Streptokokken	98,77
22	haemolysierende Streptokokken	3,38
56	haemolysierende Staphylokokken	8,62
637	Sarcinen	98,00

Tabelle 4 zeigt das Verhalten gezüchteter Corynebakterien in der Bunten Reihe.

Tabelle 4

	Dextrose	Maltose	Saccharose	Lactose	Salicin	Aesculin	Harnstoff	Dextrin	Stärke
C.diphtheriae typ mitis	+	+	-	-	-	-	-	-	-
C.pseudodiphtheriticum	-	-	-	-	-	-	+	-	-
C.xerosis	+	+	+	-	-	-	-	-	-

1. In den meisten Fällen war nach 8 Tagen der Umschlag des Indikators erfolgt; selten wurden in der Zeitspanne vom 8. bis 14. Untersuchungstag weitere Zucker gespalten, in keinem der untersuchten Fälle aber nach Ablauf des 30. Bebrütungstages beobachtet, so daß die Kontrolle der "Bunten Reihe" nach 30 Tagen als überflüssig bezeichnet werden kann.

2. Der einzige Tierversuch, der angesetzt werden mußte, ergab, wie auch der Plattenversuch nach Elek (1948), einen atoxischen Diphtherie-Stamm, der nach seinem Vergärungsbild zum typ mitis gezählt werden muß.

3. Außerdem konnten 260 Stämme isoliert werden, die zu der Gruppe Milchsäurebakterien gerechnet werden mußten. Obwohl sie mikroskopisch den Corynebakterien ähnlich waren, zeigten sie in der Bunten Reihe ein Verhalten, durch das ihre Zugehörigkeit zum Genus Corynebacterium ausgeschlossen werden konnte.

IV Statistische Auswertung der Ergebnisse *

Bei meiner Arbeit handelt es sich bezüglich der Geschlechtsverteilung (s.Tab. 5) und des Alters(s.Tab. 6) um einen annähernd repräsentativen Querschnitt für die erwachsene Bevölkerung Baden-Württembergs.

Prozentuale Verteilung der Geschlechter unter Erwachsenen:

Tabelle 5

	weibl.	männl.
a) in Baden-Württemberg	53,9	46,1
b) der von mir untersuchten Personen	51,8	48,2

Zahl der erwachsenen Personen in Baden-Württemberg 5 530 000

(Statistisches Jahrbuch für die Bundesrepublik 1964)

Tabelle 6

Altersgruppen	Bevölkerung B.-W. getrennt nach Altersgruppen	entsprechend der Untersuchten	
	in %	absolut	in %
von 21 - unter 30	22,2	125	19,2
von 30 - unter 40	19,7	123	18,9
von 40 - unter 50	16,1	114	17,5
von 50 - unter 60	19,1	130	20,0
von 60 - unter 65	7,7	57	8,8
von 65 und darüber	15,2	101	15,5

(Statistisches Jahrbuch für die Bundesrepublik 1964)

* Die statistische Bearbeitung des Materials wurde mit Hilfe des Instituts für medizinische Biometrie der Universität Tübingen (Dir. Prof. Dr. M.P. Geppert) durchgeführt.

Die Ergebnisse meiner Arbeit geben den prozentualen Anteil der 650 von mir untersuchten Personen an, in deren Rachenflora ein bestimmtes Bakterium gefunden wurde (z.B. vergrünende Streptokokken 98,77 %, Diphtheriebakterien 0,15 %). Die erhaltenen Prozentzahlen können nicht auf die Gesamtbevölkerung übertragen werden. Die Literatur zeigt aber, daß dies von vielen Autoren getan wird. Häufig beschränken sich die Prozentzahlen im Verlauf einer Arbeit auf die Anzahl der untersuchten Personen, werden dann aber in der Zusammenfassung verallgemeinert. Auf diese Art und Weise gewonnene Ergebnisse sind jeweils sehr ungenaue Näherungswerte, die noch recht erheblich nach oben oder unten abweichen können. Sicher ist darin auch ein Grund für die oft stark variierenden Ergebnisse gleichgestalteter Untersuchungen zu sehen.

Andererseits ist es ausgeschlossen, die gesamte Bevölkerung auf das Vorhandensein irgendeines Bacteriums zu untersuchen, um ganz exakte Werte zu erhalten. Hier bietet sich uns die Wahrscheinlichkeitsrechnung an, die mit einer vom Untersuchenden zu bestimmenden Sicherheit von der relativen Häufigkeit eines Merkmals in einer Stichprobe auf die relative Häufigkeit in der übergeordneten Gesamtheit schließen läßt.

Findet man ein bestimmtes Merkmal X bei weiblichen Personen häufiger als bei männlichen, so muß man die Geschlechtsverteilung in der übergeordneten Gesamtheit (z.B. Bevölkerung von Baden-Württemberg) bestimmen und diese bei der Stichprobe berücksichtigen, um zu einem repräsentativen Ergebnis zu gelangen. Genauso verhält es sich mit den Altersangaben in der übergeordneten Gesamtheit und der Häufigkeit des Merkmals X in verschiedenen Altersgruppen.

Die nun nachfolgende Wahrscheinlichkeitsrechnung wird sich mit den von mir erhaltenen Werten befassen.

Im Folgenden werden Konfidenzintervalle für die Wahrscheinlichkeit Bakterienträger zu sein, nach der Formel [Millot] (Hald, A 1952)

$$\left.\begin{matrix} P_o \\ P_u \end{matrix}\right\} = \frac{1}{n+u^2} \cdot \left[\frac{u^2}{2} + x \pm u \cdot \sqrt{\frac{u^2}{4} + \frac{x \cdot (n-x)}{n}} \right]$$

berechnet.

n = Anzahl der untersuchten Personen
In vorliegender Stichprobe: 650

u = 1,96 = 95 % Quantil der standardisierten Normalverteilung,
d.h. $\frac{2}{\sqrt{2\pi}} \cdot \int_0^{u} e^{-\frac{t^2}{2}} dt = 0{,}95$

x = Anzahl der Personen, die von einem bestimmten Bakterium befallen sind

Es wurde ein Konfidenzniveau von 95 % durchweg festgelegt.

Po = obere Konfidenzgrenze

Pu = untere Konfidenzgrenze

B e i s p i e l e:

1. Diphtheriebakterien

Anzahl der untersuchten Personen 650 = n
Davon Träger von Diphtheriebakterien 1 = x

Konfidenzgrenzen Po = 0,008662 Pu = 0,000271
≙ 0,8662 % - 0,0271 %
≙ 47 900 - 1 498

d.h., daß die wahre Wahrscheinlichkeit für Befall zwischen 0,8662 % und 0,0271 % liegt; dabei beträgt die Wahrscheinlichkeit dafür, daß diese eingrenzende Aussage den wahren Wert überdeckt, 95 %. Dieses Ergebnis bringt nun zum Ausdruck, daß von den 5,53 Millionen erwachsenen Bewohnern Baden-Württembergs nicht mehr als 47 900 und nicht weniger als 1 498 von Diphtheriebakterien befallen sind.

2. Pseudodiphtheriebakterien

Anzahl der untersuchten Personen 650 = n
Davon Träger von Pseudodiphtherie-
bakterien 16 = x
Konfidenzgrenzen Po = 0,039609 Pu = 0,15207
≙ 3,9609 % - 1,5207 %
≙ 219 037 - 84094

Somit sind in Baden-Württemberg nicht mehr als 219 037 und nicht weniger als 84094 erwachsene Personen Träger von Pseudodiphtheriebakterien.

3. Xerosebakterien

Anzahl der untersuchten Personen 650 = n
Davon Träger von Xerosebakterien 10 = x

Konfidenzgrenzen Po = 0,028086 Pu = 0,008377
≙ 2,8086 % - 0,8377 %
≙ 155 315 - 46 324

Somit werden in Baden-Württemberg nicht mehr als 155 315 und nicht weniger als 46 324 erwachsene Personen Xerosebakterien in ihrer Rachenflora beherbergen.

4. Vergrünende Streptokokken

Anzahl der untersuchten Personen 650 = n
Davon Träger von vergr. Streptokokken 642 = x

Konfidenzgrenzen Po = 0,99374 Pu = 0,97 590
≙ 99,374 % - 97,590 %
≙ 5 495382 - 5 396 727

Somit sind in Baden-Württemberg nicht mehr als 5 495 382 und nicht weniger als 5 396 727 erwachsene Personen Träger von vergrünenden Streptokokken.

5. Haemolysierende Streptokokken

Anzahl der untersuchten Personen 650 = n
Davon Träger von haem. Streptokokken 22 = x

Konfidenzgrenzen Po = 0,050714 Pu = 0,022455
≙ 5,0714 % - 2,2455 %
≙ 280 448 - 124 176

Somit sind in Baden-Württemberg nicht mehr als 280 448 und nicht weniger als 124 176 erwachsene Personen Träger von haemolysierenden Streptokokken.

6. Haemolysierende Staphylokokken

Anzahl der untersuchten Personen 650 = n
Davon Träger von haem. Staphylokokken 56 = x

Konfidenzgrenzen Po = 0,110 230 Pu = 0,066 940
≙ 11,0230 % - 6,6940 %
≙ 609 571 - 370 178

Somit sind in Baden-Württemberg nicht mehr als 609 571 und nicht weniger als 370 178 erwachsene Personen Träger von haemolysierenden Staphylokokken.

7. Sarcinen

Anzahl der untersuchten Personen 650 = n
Davon Träger von Sarcinen 637 = x

Konfidenzgrenzen Po = 0,988 275 Pu = 0,966 084
≙ 98,8275 % - 96,6084 %
≙ 5465 160 - 5 342 444

Somit sind in Baden-Württemberg nicht mehr als 5 465 160 und nicht weniger als 5 342 444 erwachsene Personen Träger von Sarcinen.

V Diskussion

A) Diskussion der Methodik

Für die Feststellung der Vergärung der in der "Bunten Reihe" verwendeten Zucker durch die Bakterien standen die Methode der Titration und die Indikatormethode zur Auswahl. Die Titration ermöglicht zwar eine genaue Angabe des Wertes bei geringster Säuerung, ist aber eine aufwendige und zeitraubende Methode. Einfacher ist die Indikatormethode, bei der der Indikator sich bereits im Nährmedium befindet und bei einem bestimmten pH-Wert einen deutlich sichtbaren Farbumschlag bewirkt.

Bei der dieser Arbeit zugrunde liegenden "Bunten Reihe" ist nur von Bedeutung, ob von dem zu prüfenden Keim überhaupt Säure gebildet wird oder nicht. Wenn wenig Säure pro Zeiteinheit gebildet wird, so ist dies nur eine Frage der Zeit, bis der pH-Wert erreicht ist, bei dem ein Farbumschlag eintritt. Um auch eine geringe Säurebildung zu erfassen, sollte der Umschlagspunkt nur wenig unter einem pH von 7,0 liegen. Damit wird die Säurebildung so frühzeitig angezeigt, daß eine Schädigung der Keime durch die Säuerung noch nicht eingetreten ist.

Aus den oben angeführten Gründen wurde die Indikator-Methode vorgezogen, wobei die Indikatoren Bromthymolblau und Wasserblau in Frage kamen.

		alkalisch		sauer
Bromthymolblau	Farbumschlag	blau	pH →	gelb
Wasserblau	Farbumschlag	farblos	pH →	blaugrün

Für die vorliegenden Untersuchungen wurde Wasserblau als Indikator verwendet. Hierfür sprachen folgende Gründe:

Wie die Versuche von Hohn (1939) zeigen, handelt es sich bei Wasserblau um einen Indikator, dessen Umschlagspunkt bei pH 6,9 - 6,8 liegt. Außerdem zeigt er vollkommene Indifferenz für das Wachstum der Bakterien. Schließlich spricht für seine Verwendung, daß er die Grundfarbe des Nährmediums nicht beeinträchtigt, sondern nur im Falle einer Säuerung desselben einen kontrastreichen tiefblauen Farbumschlag bewirkt.

Die Erkennung der Pseudodiphtheriebakterien mittels der Harnstoffspaltung ist nach Püschel (1936) ein sicheres Kriterium. Sie beweist in ihrer Arbeit, daß die Prüfung der Harnstoffermentation eine Unterscheidung zwischen Diptheriebakterien und den Pseudodiphtheriebakterien zuläßt. Keiner der von ihr geprüften 301 Diphtheriestämme zersetzte Harnstoff, während an 203 Pseudodiphtheriestämmen regelmäßig Ureasebildung nachgewiesen wurde.

B) Diskussion der Ergebnisse

1. Diphtherie-Keimträger

Bei den Trägern von Diphtheriebakterien lassen sich drei Gruppen unterscheiden:

1. Personen, die nach abgelaufener diagnostizierter Erkrankung noch längere Zeit die Erreger in Rachen oder Nase beherbergen,

2. solche, bei denen durch Diphtheriebakterien eine leichte, von den Befallenen nicht beachtete oder vom Arzt nicht als spezifisch erkannte Erkrankung bestanden hat und die im Anschluß hieran die Bakterien lange Zeit nicht verlieren,

3. diejenigen, die Bakterien auf der Rachen- oder Nasenschleimhaut tragen, ohne selbst an Diphtherie erkrankt gewesen zu sein.

In den vergangenen 25 Jahren hat die Diphtherie in Deutschland, wie in den meisten Kulturländern, stark abgenommen. So wurden in der Bundesrepublik Deutschland von 1946 - 1964 (laut Statistisches Jahrbuch [1953 - 1964]) folgende Diphtheriefälle registriert:

Tabelle 7

1946	142 788	1952	20 842	1958	5 117
1947	91 718	1953	18 344	1959	3 467
1948	60 018	1954	14 358	1960	1 965
1949	47 885	1955	11 719	1961	1 317
1950	40 548	1956	8 232	1962	813
1951	27 156	1957	6 487	1963	662
				1964	637

Bereits in der Einleitung wurden mögliche Ursachen für den starken Rückgang der Diphtherieerkrankungen erörtert. Wie meine Ergebnisse zeigen, ist offenbar auch die Zahl der Keimträger nicht hoch. Sie liegt bei 0,15 % von 650 untersuchten Personen. Allem Anschein nach befinden wir uns zur Zeit in einem sehr ausgedehnten Wellental der epidemischen Schwankungen, wie die nachstehende graphische Darstellung, nach den Angaben des Statistischen Jahrbuchs für die Bundesrepublik Deutschland (1955 - 1964) hergestellt, zeigt.

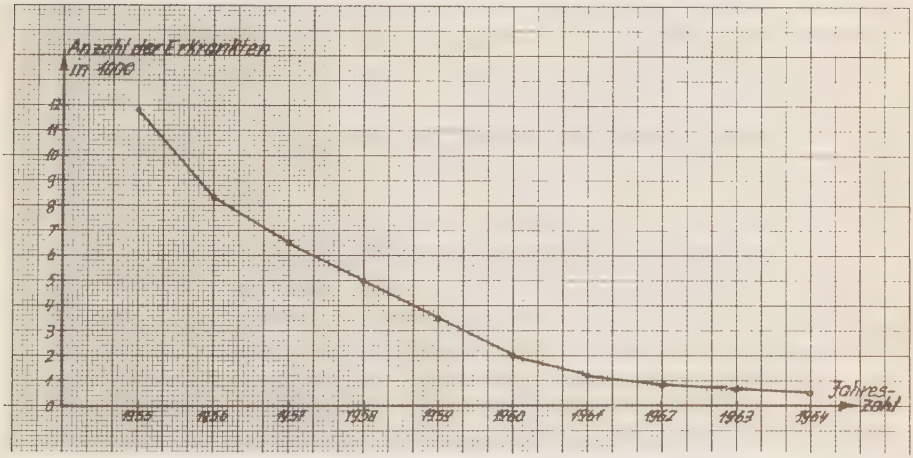

Abb. 1: Zahl der jährlich gemeldeten, an Diphtherie Erkrankten in der Bundesrepublik Deutschland.

Zu diesem Ergebnis hat außerdem die Tatsache beigetragen, daß ausschließlich erwachsene Personen untersucht wurden, denn bekanntlich handelt es sich bei der Diphtherie um eine Krankheit, die vorwiegend bei Kindern, weniger unter Erwachsenen zu finden ist, wie auch die Arbeiten von E. Seeligmann (1921), W. Schäfer (1952) und K.-H. Kosse (1957) zeigen.

Vergleichende Betrachtungen mit ähnlichen Untersuchungen können nicht angestellt werden, da im Schrifttum, das sich mit Diphtheriebakterienträgern befaßt, entweder Kinder und Erwachsene oder nur Kinder zu den Untersuchungen herangezogen wurden. Dort liegen folgende Ergebnisse über die Prozentzahlen der Keimträger vor : Markuse (1931) 0,68 %, Kober (1899) 0,83 %, Doull (1923) 1,45 % und C. Stein (1933) 0,06 %. In neuerer Zeit wurden zumindest in Deutschland keine solchen Untersuchungen mehr durchgeführt.

2. Vorkommen von Corynebacterium pseudodiphtheriticum

Nach M. v. Riemsdyk (1916) besitzt das Bacterium Hofmanni eine ausgesprochene Vorliebe für die Nasenschleimhaut, während die Diphtheriebakterien ihre pathogenen Eigenschaften besser auf der Rachenschleimhaut entfalten können und vorwiegend auch dort anzutreffen sind. Ihre rechnerische Bearbeitung des einschlägigen Schrifttums führt zu einem Ergebnis von:

Bacterium Hofmanni allein in der Nase bei 38 %
" " " im Rachen bei 9 %.

Daß bei meiner Arbeit nur 2,46 % der 650 Untersuchten mit Pseudodiphtheriebakterien infiziert waren, ist wohl darauf zurückzuführen, daß sich in den vergangenen 50 Jahren die persönliche Hygiene im allgemeinen verbessert hat die, wie M v. Riemsdyk (1916) ebenfalls zeigt, sich entscheidend auf die Häufigkeit des Vorkommens von Pseudodiphtheriebakterien auswirkt.

Sie nimmt als primären Sitz des Bacterium Hofmanni die Nasenschleimhaut an und bezeichnet die Besiedlung des Rachens als eine mechanische (Aspiration, Unsauberkeit) von der Nase ausgehende Infektion. Zu erwähnen wäre auch hier wieder das Ergebnis von Stein (1933), welche bei 2,51 % der Untersuchten die Keime gefunden hat.

3. Vorkommen von Corynebacterium xerosis

C.xerosis konnte, wie berichtet, in 10 von 650 Fällen, 1,54 % aus dem Rachen isoliert werden. Diese kleine Zahl ist nicht außergewöhnlich, da das C.xerosis nach Hackenthal und Bierkowski (1948/49) als harmloser Parasit der Augenbindehaut, weniger der Nasenschleimhaut und selten des Rachens angetroffen wird.

4. Vergrünende Streptokokken

(mit α - Haemolyse) konnten, wie erwartet, in den Abstrichen der meisten Untersuchten gefunden werden, und zwar in 642 Fällen. Sie gehören zu der normalen Mund- und Rachenflora (Seelemann [1954], Berger [1955]).

5. die haemolysierenden Streptokokken (β - Haemolyse) konnten in 22 Fällen (also in 3,38 % der 650 Untersuchten) isoliert werden, eine Zahl, die sich mit den Werten von Wohlfeil und Jaffe (1931) als auch C. Stein (1933) annähernd deckt.

6. Der Befall mit pathogenen Staphylokokken ist, wie die Arbeit von O. Schubert (1951) zeigt, abhängig von Bevölkerungsdichte, der Lebensweise und klimatischer Einflüsse bei normalen Personen. Durch Nasen und Hautabstriche können 0 - 9 % Keimträger gefunden werden. Andererseits haben englische Autoren erstaunlich hohe Ergebnisse (5- 47 %). Mein Ergebnis von 8,62 % der 650 Untersuchten soll lediglich mitgeteilt werden. Eine kritische Betrachtung soll im Rahmen dieser Arbeit nicht angestellt werden.

7. Sarcinen kommen vorwiegend in der Luft und im Wasser (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1957) und Topley and Wilson (1955) vor und gelangen nach Berger (1955) mit der Nahrung und durch Eßgerät in die Mundhöhle. Die hohe Zahl von 98, 00 % ist daher verständlich.

VI Zusammenfassung

1. Von 650 Erwachsenen ohne klinische Zeichen einer Rachenerkrankung wurden Rachenabstriche auf Corynebakterien, Streptokokken, Staphylokokken und Sarcinen untersucht. Dabei ergaben sich folgende Resultate:

Corynebacterium diphtheriae	1 (0,15 %)
Corynebacterium pseudodiphtheriticum	16 (2,46 %)
Corynebacterium xerosis	10 (1,54 %)
Vergrünende Streptokokken	642 (98,77 %)
Haemolysierende Streptokokken	22 (3,38 %)
Haemolysierende Staphylokokken	56 (8,62 %)
Sarcinen	637 (98,00 %)

2. Die gewonnenen Versuchsergebnisse wurden mit Hilfe der Wahrscheinlichkeitsrechnung auf die gesamte erwachsene Bevölkerung Baden-Württembergs übertragen.

VII Literatur

Berger, U. — Mikrobiologie der Mundhöhle für Zahnärzte und Studenten
Verlag U.Urban und Schwarzenberg, München-Berlin (1955)

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology — 7. Ausgabe Seite 581 - 591 (1957)

Bretonneau, P. — Des inflammations spéciales du tissu muqueux, et en particulier de la diphthérite, ou inflammation pelliculaire.
Paris 1926, Chez Crevot, Libraire-Editeur

Clauberg, K.W. — Ergänzende Ausführung über Brauchbarkeit, Herstellung und Verwendung der neuen Blutwasser-Glyzerolat-Tellur-Nährplatte zur bakteriologischen Diphtheriediagnostik.
Zbl. Bakt. I Orig. 128, 153 (1933)

Doull, J.A. und Fales, W.T. — Carriers of diphtheria bacilli among the school population of Baltimore.
American Journal of Hyg. 3, 604 (1923)

Elek, St. — The recognition of toxicogenic bacterial strains in vitro.
Brit. Med. Journ. March 13.493 (1948)

Hackenthal, H. und Bierkowski, E. — Die Corynegruppe, insbes. die Xerose. Zbl. f. Bakt. Originale 153, 204 (1948/49)

Hald, A. — Statistical tables and formulas (1952). Verl. Wiley, London

Hallmann, L. — Bakteriologie und Serologie (3. Aufl. 1961). Georg Thieme-Verlag Stuttgart

v.Hofmann, G Wellenhof — Untersuchungen über den Löffler'schen Bacillus der Diphtherie und seine pathogene Bedeutung. Zbl. Bakt. I Orig. 2, 543 (1887)

Hohn, J. — Wasserblau als Indikator zur Typenbestimmung bei Diphtheriebacillen. Z. Hyg. 121, 533 (1939)

Kober, M. — Die Verbreitung des Diphtheriebacillus auf der Mundschleimhaut gesunder Menschen. Z. Hyg. 31, 433 (1899)

Kosse, K-H. — Über die Altersverteilung der Diphtheriefälle in den Jahren 1946 - 1955 in Westberlin. Zbl. f.Bakt. I Orig. 169 519 (1957)

Loeffler, F. — Untersuchungen über die Bedeutung der Mikroorganismen für die Entstehung der Diphtherie beim Menschen, bei der Taube und beim Kalbe. Mitteilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte 2, 421 (1884)

Marcuse, K. — Diphtheriebazillenträger und Diphtheriemorbidität. Z. Hyg. 112, 270 (1931)

Püschel, J. — Harnstoffzersetzung als Unterscheidungsmerkmal zwischen Diphtherie- und Pseudodiphtheriebakterien. Klinische Wochenschrift 15. Jahrgang, No. 11, 375 (1936)

v. Riemsdyk, M. — Biologisch-epidemiologische Gedanken über die Frage der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen mit besonderer Berücksichtigung des Bacillus Hofmanni. Z. Hyg. 82, 29, (1916)

Schäfer, W. — Epidemiologische Ermittlungen über die Letalität der Diphtherie in der Nachkriegszeit. Z. Hyg. 135, 61 (1952)

Schiff, W. Spelsberg, E. und Gerbershagen, H.-U. — Diphtinbildung als Unterscheidungsmerkmal zwischen Corynebacterium diphtheriae und C. paradiphtheriae (C.Xerose). Zbl. Bakt. I.Orig.,186, 328 (1962)

Schneider, Gerda — Aufgabensammlung zur statistischen Methodenlehre. Erläuterungen mit Musterbeispielen und Aufgaben mit Lösungen. 7., durchgesehene Auflage, München 1962

Schubert, O. — Studien über pathogene Staphylokokken in südosteuropäischen und mediterranen geographischen Einheiten. Z. Hyg. 132, 465 (1952)

Seelemann, M. — Biologie der Streptokokken. 2. Auflage, Verlag Hans Carl Nürnberg (1954)

Seeliger, H.P. — Beiträge zur Hygiene und Epidemiologie. Heft 8, Lysteriose, 2. Auflage (1958), Johann Ambrosius Barth-Verlag, München

Seeligmann, E. — Die Diphtherie in Berlin. Eine seuchengeschichtliche Untersuchung. Z. Hyg. 92, 171 (1921)

Statistisches Jahrbuch für die Bundesrepublik Deutschland — (1952 - 1954) Verlag W. Kohlhammer GmbH Stuttgart

Stein, C. — Untersuchungen über das Vorkommen und die etwaige Pathogenität der Corynebakterien, der gramfreien Rachenkokken und der Streptokokken in Rachenabstrichen von 1750 Schulkindern, Inaugural-Diss. Marburg (1933)

Topley and Wilson, G. — Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity, 4. Ausgabe, Volume I, Edward Arnold (Publishers Ltd.) (1955)

Wohlfeil, T. und Jaffe, E. — Vergleichende Untersuchungen an verschiedenen Stellen Deutschlands über die Bakterienflora der Rachenhöhle (unter besonderer Berücksichtigung der gramnegativen Kokken). Z. Hyg. 112, 46 (1931)

An dieser Stelle möchte ich Herr Professor Dr. Wundt für die Überlassung des Themas sowie für die vielseitige Unterstützung bei meiner Arbeit herzlichst danken.

Frau Prof. Dr. M.P. Geppert, Direktorin des Statistischen Instituts für Medizinische Biometrie, sei für die Überprüfung der statistischen Berechnungen gedankt.

Lebenslauf

Am 31. August 1938 wurde ich, Wolfgang Saria,als Sohn des Dentisten Karl Saria und seiner Ehefrau Mathilde geb. Merz in Stuttgart geboren.
Von 1944 bis 1949 besuchte ich die Ostheimer Volksschule in Stuttgart.

Nach bestandener Aufnahmeprüfung trat ich 1949 in das mathematisch-naturwissenschaftliche Zeppelin-Gymnasium in Stuttgart ein und legte dort im Frühjahr 1960 das Abitur ab.

Von 1960 bis 1961 absolvierte ich den Grundwehrdienst bei der Bundeswehr.

Ab Sommersemester 1961 schrieb ich mich für das Studium der Zahnheilkunde an der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen ein und bestand im Herbst 1964 die zahnärztliche Vorprüfung. Auch die folgenden 5 klinischen Semester studierte ich in Tübingen und legte im Juli 1967 das zahnärztliche Staatsexamen ab.

BAMBERGER FOTODRUCK · RUDOLF RODENBUSCH
8600 BAMBERG - Markusplatz 22 · Telefon: 0951/26794